

< Original Article >

육계에서 조직과 혈액의 enrofloxacin 및 대사성 ciprofloxacin 잔류 상관관계 조사 및 검사방법간의 비교

성명숙¹ · 김미숙¹ · 서희진¹ · 배동록¹ · 황지영¹ · 김순태^{1*}
조종숙² · 박홍제² · 홍성희² · 김경동² · 장성준¹ · 윤문조¹

경북가축위생시험소¹, (주)메덱스²

Comparison of detecting methods and the relationship between tissue and blood for enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues in broiler chickens

Myung-Suk Sung¹, Mi-Suk Kim¹, Hee-Jin Seo¹, Dong-Rok Bae¹, Ji-Young Hwang¹,
Soon-Tae Kim^{1*}, Jong-Suk Cho², Hong-Je Park², Sung-Hee Hong², Gyung-Dong Kim²,
Seong-Jun Jang¹, Mun-Jo Yun¹

¹Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 702-911, Korea
²MEDEXX CO. LTD, Seongnam 463-400, Korea

(Received 19 November 2013; revised 13 December 2013; accepted 24 December 2013)

Abstract

The purpose of this study was to evaluate detecting methods and the relationship between tissues and blood for enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues in broiler chickens. Two groups of broiler chickens were administrated via the drinking water with 50 µg/mL and 100 µg/mL of enrofloxacin for 5 days, respectively. The concentration of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin in tissues (muscle and kidney) and blood were measured during administration period (for 5 days) and withdrawal period (for 12 days) by high performance liquid chromatography (HPLC) method. Also, all samples were conducted for screening of residues by microbial method using *E. coli* for quinolone detection and immuno-chromatography method using Smart kit. The relationship between tissues (muscle and kidney) and blood for enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues in broiler chickens was followed : The levels of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues in muscle and kidney were higher 2.9~3.2 folds, 3.6~3.8 folds more than the residues levels in blood, respectively. These results support we can predict the residues in muscle and kidney from the residues in blood. In comparison of detecting methods for antibiotic residues, microbial method using *E. coli* for quinolone detection and immuno-chromatography method using Smart kit could detect positive reaction at similar or lower concentration than violative concentration of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin in chicken tissues. These results support what two screening methods are useful for screening of quinolone detection in chickens.

Key words : Antibiotic residues, Enrofloxacin, Tissue (muscle and kidney), Blood

*Corresponding author: Soon-Tae Kim, Tel. +85-53-326-9411,
Fax. +85-53-326-9412, E-mail. gugu60@korea.kr

서 론

항균성 약제는 국내외를 막론하고 가축의 세균성 질병을 치료하고 예방할 뿐만 아니라 성장촉진을 위해서 사용되어져 왔다. 우리나라는 이러한 약제들로부터 축산물의 안전성을 확보하기 위해 1980년대 후반기에 잔류물질검사를 시작한 이후, 전국적인 검사 체계의 기틀을 마련하여 1996년에 현재의 잔류물질 검사 체계를 정비하였다(농림수산부, 1989; 농림축산검역본부, 2013; 손, 2003). 식육 중 잔류물질검사는 도축 전 검사와 도축 후 검사로 구분되어 있으며, 도축 전 검사는 농장에서 잔류위반 발생을 사전에 방지하기 위해 살아있는 가축의 뇨 또는 혈액을 채취하여 약물의 잔류여부를 의뢰하여 검사하고 있으나, 실제로 농가에서 활용이 적은 실정이다(식품의약품안전처, 2013a). 대부분의 잔류물질검사는 도축 후 검사로 진행되고 있으며, 축산물검사관이 도축장에서 근육과 신장 등으로 검사하도록 규정되어 있다(식품의약품안전처, 2013a). 따라서 시료 채취로 인한 도체 손상이 불가피하며, 특히, 도체의 크기가 작은 닭의 경우 상품 가치 저하에 큰 영향을 미치고 시료채취 건수도 제한을 받게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위한 방편으로 도축시 방혈단계에서 혈액을 채취하여 농가별로 약물 잔류 스크리닝에 활용한다면, 도체에 손실을 주지 않으면서 시료채취가 용이하여 근육이나 신장을 이용한 검사보다 더 많은 개체를 검사할 수 있게 됨으로 축산물 안전성 확보에 한층 더 기여할 수 있다(Reyes-Herrera et al, 2011). 또한, 농장에서 질병예방 및 치료 목적으로 투약한 약제의 잔류여부를 확인할 때에도 도축장에서 혈액을 이용하여 검사하는 방법을 동일하게 적용하면 잔류위반 농가의 발생을 사전에 예방할 수 있을 것이다.

이러한 검사가 실제로 적용되기 위해서는 현재 항균제에 대한 잔류기준이 설정되어 있는 근육, 신장 등 조직에서의 약제 잔류량과 혈액에서의 약제 잔류량 비교가 선행되어야 한다. 이에 본 실험에서는 조직과 혈액의 잔류량 비교를 위한 항균제로 닭에서 질병 치료에 많이 사용되고 있는 enrofloxacin (ENR)을 선택하였다. ENR은 fluoroquinolone계 항균물질로 흡수가 잘되고 다양한 동물의 체액과 조직에 광범위하게 분포하는 약제이다(Posyniak et al, 2002). 이 fluoroquinolone은 그람음성균, 그람양성균 및 mycoplasma에 강한 항균력을 지니고 있어 사람과 가축의 치료 및 예방에 널리 사용되어 왔다(Seo 등, 2002;

Gigosos et al, 2000; Wright et al, 1998). 그러나, 미국에서 식용동물에 fluoroquinolone을 사용하는 것이 사람에서 식중독을 일으키는 *Campylobacter*의 내성과 관련이 있다는 가능성이 제기되었고(Gupta et al, 2004; Iovine and Blaser, 2004), Collignon (2005)은 가금에 fluoroquinolone 사용이 사람에게 사용되는 항균제의 작용에 영향을 줄 수 있는 것으로 보고하였다. 따라서 Food and Drug Administration은 가금에서 fluoroquinolone 사용이 사람에게 미치는 위해성을 우려하여 1996년부터 가금에 사용해 오던 ENR의 사용 승인을 2005년에 철회하였다(Anderson et al, 2003; Cox, 2006; FDA, 2005). 우리나라에서도 가축에 fluoroquinolone의 사용이 증가되면서 내성이 빠르게 확산되었으며(Kim 등, 1997; Sung 등 2008; Lee 등, 2005; Lee et al, 2005), 계란에서도 이 계열 약제에 대한 잔류문제가 대두되었다(서, 2000). 현재 우리나라에서는 미국과는 달리 ENR을 비롯한 fluoroquinolone에 대해서 가축과 어류에 허용기준을 설정하여 사용되고 있기 때문에, 국내 축산물의 fluoroquinolone 잔류 문제는 배제될 수 없는 실정이다(식품의약품안전처, 2013b). Lolo 등(2006)은 닭의 조직에 잔류된 ENR이 100°C 끓는 물에서 3시간 동안 처리하여도 안정적으로 남아있으며, 구이, 끓임 등의 조리과정이 이 약제에 영향을 주지 않기 때문에 조리 전 닭고기에 잔류된 ENR 농도는 고기를 섭취하는 사람의 추정 잔류농도로 유효하다고 보고하였다. 이러한 결과는 식육의 ENR 잔류문제가 사람의 건강에 직접적으로 영향을 미칠 수 있어 중요한 위해요인으로 작용할 수 있음을 시사하고 있다.

한편, 우리나라 잔류물질검사 방법은 도축 전 혈액과 뇨에 대해 각각 BmDA법과 TLC법으로 검사하고 있으며, 신장과 근육에 대해서는 미생물학적 검사법으로 간이정성검사를 실시하여 양성인 경우 고속액체크로마토그래피(HPLC) 및 질량분석기(LC/MS/MS)를 이용하여 정밀정량검사를 실시하고 있다. 이 외에도 간이검사법으로 면역크로마토그래피법을 이용한 Smart kit 등 신속검사키트를 사용할 수 있도록 규정되어 있다(식품의약품안전평가원, 2013). 국내 여러 연구자들이 HPLC, LC/MS/MS 등을 이용하여 닭고기나 식용란에 잔류되어 있는 fluoroquinolone에 대해 조사를 하였으나(Koh 등, 2005; Park 등, 2004; Sim 등, 2005; Choi 등, 2007), 정밀정량검사법과 미생물학적 간이검사법 및 면역크로마토그래피법을 동시에 비교한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 육계의 근육, 신장, 혈액내

ENR과 대사성 ciprofloxacin (CIP) 잔류 상관관계를 조사하여 혈액내의 잔류량으로 근육과 신장내의 잔류량을 예측할 수 있는지를 살펴보고, 아울러 검사방법간의 잔류 검출 정도를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

1일령 육계(로스) 300수를 (주)올품 사별부화장에서 구입하여 각각 150수씩 2개 실험동물사에 입식하였고, 사료(육계용 사료, 대구축협사료공장)와 물은 무제한 공급하면서 사육하였다.

약물투여

공시약제로 사용한 ENR 제제는 바이엘사의 바이트릴 양계용(ENR 함량: 100 g/L, 음수용)이며, 투여 용량은 제품 사용설명서에서 제시하는 권장농도 50 µg/mL와 권장 농도의 2배인 100 µg/mL로 희석하여 2개의 계군에 각각 18일령부터 5일간 음수로 무제한 공급하였다.

시료채취

시료채취는 약물투여 전과 약물투여 후 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 120시간과, 휴약 후 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288시간에 실시하였다. 매 채취시기마다 약물을 투여한 2개 계군에서 각각 5수씩 무작위로 취하여 심장에서 혈액을 약 6~7 mL 정도 채취하여 혈청을 분리하였고, 곧바로 경추탈구 후 가슴 근육과 신장을 채취하여 -80°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

실험방법

1. 정밀정량검사

표준품 및 시약: 표준품은 HPLC용 ENR (Fluka, Germany), CIP (Fluka, Germany)를 사용하였으며, 추출과 분석에 사용된 시약은 n-hexane (Merck, Germany), acetonitrile (Merck, Germany), methanol (Merck, Germany), water (Burdick & Jackson, USA), triethylamine (Sigma, USA) 및 phosphoric acid (Merck, Germany)였다.

다.

표준용액 제조: ENR과 CIP 표준품을 각각 10 mg씩 정량하여 100 mL 용량플라스크에 취하였고, methanol 100 mL에 완전히 녹여 100 µg/mL가 되도록 표준원액을 만들어 각각의 표준원액을 이동상 용액으로 1 µg/mL가 되도록 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

시료 전처리: 혈청은 Sim 등(2005)의 방법에 따라 700 µL를 취한 후, 동량의 이동상을 가한 다음 80°C에서 5분간 가열한 후 냉각시켜 10,000 r/min에서 10분간 원심분리하여 상층액을 0.2 µm nylon syringe filter로 여과하여 사용하였다. 근육과 신장은 축수산물 유해물질 분석법 편람(식품의약품안전평가원, 2013)에 따라 각각 1 g씩을 50 mL 원심튜브에 취하여 2.5% trichloroacetic acid (Lancaster, England) 1 mL를 가하여 10분간 균질화하고 8 mL acetonitrile을 가하여 10분간 혼합한 후, 5,000 r/min에서 20분간 원심분리하였다. 15 mL 시험관에 상층액을 취하고, 남은 잔사에 다시 5 mL acetonitrile을 가하여 동일한 조건으로 혼합 후 원심분리하여 상층액을 합하였다. 합해진 상층액을 Na₂SO₄ (Junsei, Japan) 5 g에 통과시켜 얻어진 추출액에 n-hexane 10 mL를 가하여 혼합한 후, 3,500 r/min에서 5분간 원심분리하여 하층액을 유리튜브에 옮겨 50°C에서 질소하 농축건조 시켰다. 여기에 50% acetonitrile 0.5 mL과 이동상 0.5 mL를 가하여 초음파에서 10분간 방치 후, 4°C 15,000 r/min에서 10분 원심분리하여 상층액을 0.2 µm nylon syringe filter로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

분석조건: 약물의 정량분석은 형광검출기가 장착된 고속액체크로마토그래피(HPLC, Waters Alliance 2695, USA)를 이용하였으며, 칼럼은 Waters Atlantis dC18 3 µm, 4.6×150 mm (Waters, Ireland)을 사용하였다. 형광검출기의 파장은 여기파장 278 nm, 측정파장 455 nm이며, 측정파장분석온도는 35°C, 유속은 1.0 mL/min이었고, 주입량은 50 µL였다. 이동상은 증류수(0.4% triethylamine, phosphoric acid 포함): 메탄올 비율이 77:33(v/v)으로 혼합한 용액을 0.45 µm 필터로 여과하여 사용하였다(식품의약품안전평가원, 2013). ENR의 limit of detection (LOD)과 limit of quantification (LOQ)은 각각 0.135 ng/mL, 0.451 ng/mL이었고, CIP의 LOD와 LOQ는 각각 0.264 ng/mL, 0.882 ng/mL이었다.

표준곡선 작성: 퀴놀론계 혼합표준용액을(1 µg/mL)을 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 µg/mL가 되도록 희석하여 농도별 표준곡선을 검량하여 각 농도별 면

적비를 구한 후, 회귀분석하여 표준곡선을 작성하였다.

2. 간이검사법

BmDA 법: 혈청에 대한 간이검사로 축수산물 유해물질 분석법 편람의 방법에 따라 실시하였다(식품의약품안전평가원, 2013). 즉, 시험균으로 *Bacillus megaterium* ATCC 9885를 사용하였고, agar를 0.5% 추가한 아포조제용 배지(AK #2 sporulating agar, BBL, USA)에 시험균을 37°C에서 18~24시간 배양 후, 실온에 6일간 방치하여 멸균증류수로 집균하였다. 이것을 65°C 항온수조에서 30분간 가열 후, 15,000 r/min으로 20분간 원심분리하여 상층액을 제거한 다음 다시 일정량의 멸균증류수를 가하여 원심분리하는 세척과정을 3회 반복한 후, 멸균증류수로 재부유시켜 균수가 2×10^6 CFU/mL이 되도록 하여 시험균액으로 사용하였다. 시험용 평판은 Mueller hinton medium (Merck, Germany) 100 mL당 조제된 시험균액 1 mL를 가하여 충분히 희석한 후 petri dish (87×15 mm)에 8 mL씩 분주하여 응고시켜 사용하였고, 스트렙토마이신 감수성 디스크(10 µg, BBL, USA)를 이용하여 발육억제대 직경이 20 mm 이상인지 확인하여 시험용 평판 검출능의 적절 여부를 점검하였다. 시료의 검사는 디스크(직경 10 mm, Advantec, Japan)를 시험용 평판위에 올려놓고 가볍게 부착시킨 후 혈청 25 µL씩 점적하여 흡수시키고, 45°C 배양기에서 16~18시간 배양한 후 캘리퍼스를 이용하여 디스크 직경을 포함한 세균 발육억제대를 측정하였으며, 그 측정값이 12 mm 이상일 경우 양성으로 판정하였다.

퀴놀론계 항균물질 간이검사법: 근육과 신장에 대한 간이검사로 축수산물 유해물질 분석법 편람의 방법에 따라 실시하였다(식품의약품안전평가원, 2013). 즉, 시험균으로는 *E. coli* ATCC 11303을 사용하였고, 시험균액은 20 mL Nutrient broth (BBL, USA)에 계대 보존한 균주를 직경 1 mm 백금이로 1회 접종하여 30°C에서 16~18시간 배양한 액을 시험균액으로 사용하였다. 시험용 평판은 Test agar pH 6.0±0.1 (Merck, Germany) 100 mL 당 시험균액 0.5 mL를 가하여 희석한 후 petri dish (87×15 mm)에 8 mL씩 분주하여 응고시켜 사용하였다. 시료의 검사는 근육과 신장을 각각 50 mL 원심관에 옮겨 담아 100°C 항온수조에 중탕하여 육즙을 낸 후 디스크에 25 µL씩 점적하여 흡수시키고, 30°C 배양기에서 16시간 배양한 후 캘리퍼스를 사용하여 디스크 직경을 포함한 세균 발육억제대를 측정하였으며, 그 측정값이 12 mm 이상일 경우 양성

으로 판정하였다.

Smart Kit: 면역크로마토그래피법을 이용한 잔류물질검사로 축수산물 유해물질 분석법 편람의 방법에 따라 실시하였다(식품의약품안전평가원, 2013). 근육, 신장 및 혈청 시료에 대하여 Beta-lactam (Bet), Quinolone (QNL), Sulfonamide (SFA), Tetracycline (Tet) 4계열의 항생제 잔류유무를 동시에 검사할 수 있는 Combo 1 kit (BioNet, Korea)를 사용하였으며, 검사법은 제조사의 사용방법에 준하였다. 즉, 근육과 신장은 퀴놀론계 항균물질 간이검사에서 채취한 각각의 육즙을 12,000 r/min에서 10분간 원심분리한 후 상층액과 dilution buffer를 1:1로 충분히 섞어 kit에 120 µL 점적하여 40°C heating block에서 10분간 반응시켰다. 혈청은 dilution buffer와 1:1로 희석하여 동일한 방법으로 반응시켰다. 결과는 antibiotic detection kit reader 기로 판독하여 QNL test의 ratio를 측정하였으며, 그 측정값이 1 이상일 경우 양성으로 판정하였다.

결 과

육계에 ENR을 권장량인 50 µg/mL와 권장량의 2배인 100 µg/mL를 5일간 연속 음수투여하여 투약기간과 휴약기간 시간대별로 조직(근육 및 신장)과 혈액의 잔류 상관관계를 조사하기 위해 HPLC를 이용하여 정밀정량검사 한 결과는 다음과 같다.

50 µg/mL을 투여한 계군에서는 Table 1에서와 같이 투여 후 1시간에 근육, 신장, 혈청에서 ENR과 대사산물인 CIP의 합이 각각 1.176 ± 0.373 µg/g, 1.412 ± 0.572 µg/g, 0.420 ± 0.060 µg/mL로 검출되었다. 또한, 약물 투여 후 12시간에 근육과 신장에서 각각 3.250 ± 0.696 µg/g, 3.182 ± 0.517 µg/g, 혈청에서는 48시간에 1.233 ± 0.160 µg/mL로 가장 높게 검출되었다. 한편, 휴약기간 중의 잔류량 추이를 조사한 결과는 Table 2에서와 같이 휴약 후 12시간에 근육, 신장, 혈액에서 잔류량이 각각 0.388 ± 0.092 µg/g, 0.453 ± 0.140 µg/g, 0.083 ± 0.006 µg/mL로 검출되었고, 이는 최종 약물 투여 120시간에 비해 근육, 신장, 혈청에서 잔류량이 각각 0.15배, 0.17배, 0.10배로 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 휴약 후 36시간부터 근육에서 잔류허용기준인 0.1 µg/g 이하로 감소하였고, 신장에서는 휴약 후 24시간부터 잔류허용기준인 0.3 µg/g 이하로 감소하였다. 휴약 후 최종적으로 96시간까지 미량으로 검출되었고, 그 검출량은 근육과 신장에서 각각 0.003 ± 0.004

Table 1. Mean of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues from tissues and blood in broiler chickens administrated with enrofloxacin (50 µg/mL and 100 µg/mL) during administrated period

| Time (h) | Group administrated with 50 µg/mL | | | Group administrated with 100 µg/mL | | |
|----------|-----------------------------------|---------------|---------------|------------------------------------|---------------|---------------|
| | Muscle (µg/g) | Kidney (µg/g) | Blood (µg/mL) | Muscle (µg/g) | Kidney (µg/g) | Blood (µg/mL) |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 1.176±0.373* | 1.412±0.572 | 0.420±0.060 | 3.811±0.774 | 4.155±0.601 | 1.164±0.079 |
| 3 | 1.995±0.590 | 2.344±0.600 | 0.628±0.069 | 5.280±0.598 | 5.562±0.858 | 1.692±0.085 |
| 6 | 2.510±0.537 | 2.533±0.436 | 0.787±0.082 | 3.930±1.096 | 5.547±2.256 | 1.629±0.276 |
| 12 | 3.250±0.696 | 3.182±0.517 | 0.962±0.068 | 4.238±0.359 | 3.992±0.595 | 1.708±0.069 |
| 24 | 2.770±0.546 | 3.026±0.820 | 1.179±0.160 | 5.274±0.702 | 5.095±0.589 | 1.823±0.144 |
| 48 | 2.420±0.635 | 2.723±0.386 | 1.233±0.160 | 5.265±1.033 | 5.484±1.341 | 2.367±0.224 |
| 72 | 2.501±0.548 | 2.777±0.635 | 0.802±0.105 | 5.253±0.896 | 5.085±1.052 | 1.718±0.195 |
| 120 | 2.574±0.875 | 2.671±0.598 | 0.845±0.087 | 4.866±1.011 | 4.916±0.998 | 2.073±0.206 |

*Mean±SD (Sum of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues).

Table 2. Mean of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues from tissues and blood in broiler chickens administrated with enrofloxacin (50 µg/mL and 100 µg/mL) during withdrawal period

| Time (h) | Group administrated with 50 µg/mL | | | Group administrated with 100 µg/mL | | |
|-----------|-----------------------------------|---------------|---------------|------------------------------------|---------------|---------------|
| | Muscle (µg/g) | Kidney (µg/g) | Blood (µg/mL) | Muscle (µg/g) | Kidney (µg/g) | Blood (µg/mL) |
| w*12 | 0.388±0.092 [†] | 0.453±0.140 | 0.083±0.006 | 0.747±0.173 | 1.139±0.133 | 0.216±0.023 |
| w24 | 0.172±0.043 | 0.217±0.063 | 0.055±0.006 | 0.247±0.081 | 0.334±0.051 | 0.077±0.011 |
| w36 | 0.073±0.043 | 0.127±0.056 | 0.025±0.009 | 0.061±0.019 | 0.125±0.067 | 0.019±0.004 |
| w48 | 0.038±0.016 | 0.053±0.015 | 0.009±0.002 | 0.033±0.020 | 0.050±0.017 | 0.012±0.004 |
| w60 | 0.009±0.005 | 0.013±0.005 | - | 0.041±0.042 | 0.072±0.058 | - |
| w72 | 0.014±0.011 | 0.020±0.010 | - | 0.019±0.012 | 0.074±0.041 | - |
| w96 | 0.003±0.004 | 0.001±0.000 | - | 0.007±0.004 | 0.066±0.048 | - |
| w120 | - [‡] | - | - | 0.008±0.007 | 0.037±0.022 | - |
| w144-w288 | - | - | - | - | - | - |

*Withdrawal, [†]Mean±SD (Sum of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues), [‡]Not detected.

µg/g, 0.001±0.000 µg/g이었다. 혈청에서는 휴약 후 48시간까지 검출되었고, 검출량은 0.009±0.002 µg/mL이었다. 시료별 잔류량을 비교해보면 전반적으로 신장, 근육, 혈청 순으로 높았으며, 시료간의 잔류량 상관관계는 혈청에서의 잔류량에 비해 근육과 신장에서의 잔류량이 각각 평균 3.2배, 3.8배 높은 것으로 나타났다. 세부적으로는 투약기간 중에는 혈청에 비해 근육과 신장에서 잔류량이 각각 평균 2.9배, 3.1배 높았고, 휴약 기간에는 혈청에 비해 근육과 신장에서의 잔류량이 각각 평균 3.8배, 5.1배 높은 것으로 나타났다(Table 3).

100 µg/mL 투여 계군에서도 Table 1에서와 같이 투여 후 1시간에 신장, 근육, 혈청에서 각각 3.811±0.774 µg/g, 4.155±0.601 µg/g, 1.164±0.079 µg/mL로 높은 검출량을 나타내었다. 투여 후 3시간에 신장과 근육에서 각각 5.280±0.598 µg/g, 5.562±0.858 µg/g로 가장 높게 나타났으며, 혈청에서는 48시간에 2.367±0.224 µg/mL으로 가장 높게 나타났다. 약물 투여 중단 후

12시간에 측정된 잔류량은 근육, 신장, 혈청에서 각각 0.747±0.173 µg/g, 1.139±0.133 µg/g, 0.216±0.023 µg/mL 이었으며, 이는 최종 약물 투여 120시간에 비해 신장, 근육, 혈액에서 잔류량이 각각 0.15배, 0.23배, 0.10배로 급격하게 감소하는 경향을 보였다(Table 2). 휴약 후 36시간부터 근육과 신장에서 각각 잔류 허용기준 이하로 감소하였다. 휴약 후 최종적으로 120시간까지 미량으로 검출되었으며, 그 검출량은 근육과 신장에서 각각 0.008±0.007 µg/g, 0.037±0.022 µg/g이었다. 혈청에서는 휴약 후 48시간까지 검출되었으며, 검출량은 0.012±0.004 µg/mL이었다. 시료별 잔류량을 비교해보면 일부 시간대를 제외한 대부분의 시료채취 시간에 신장, 근육, 혈청 순으로 높게 나타났다. 시료간의 잔류량 상관관계는 혈청에서의 잔류량에 비해 근육과 신장에서의 잔류량이 각각 평균 2.9배, 3.6배 높았다. 세부적으로는 투약기간에는 혈청에 비해 근육과 신장에서의 잔류량이 각각 평

균 2.7배, 2.9배 높았고, 휴약기간에는 혈청에 비해 근육과 신장에서의 잔류량이 각각 평균 3.2배, 5.1배 높은 것으로 나타났다(Table 3).

ENR의 투여용량에 따른 잔류양상을 살펴보면 Fig. 1에서와 같이 50 µg/mL과 100 µg/mL을 음수투여한 후 근육, 신장, 혈청에서의 잔류량은 100 µg/mL 투여 계군이 50 µg/mL 투여 계군보다 투여기간 및 휴약 후 각 시료별로 높게 검출되거나 오랜 기간 동안 잔류되는 경향을 보였다. 그러나, 잔류허용기준이하로 소실되는 기간은 근육에서 두 계군 모두 휴약 후 36 시간이었고, 신장에서는 50 µg/mL 투여 계군이 휴약 후 24시간이었으며 100 µg/mL 투여 계군이 휴약 후 36시간으로 거의 동일한 경향을 보였다.

ENR과 대사산물인 CIP 잔류의 검사방법간 비교를 위해 HPLC를 실시한 동일한 시료를 대상으로 *E. coli* 를 이용한 퀵놀론계 항균물질 간이검사법과 Smart kit

를 이용한 잔류 스크리닝을 실시하였으며, 그 결과는 Table 4 및 Table 5와 같다.

근육의 HPLC 측정 결과 잔류 허용 기준치인 0.1 µg/g를 초과하는 것은 두 계군 모두 휴약 후 24시간 까지였으며, 이 때 잔류검출농도는 50 µg/mL, 100 µg/mL 투여 계군 각각 0.172±0.043 µg/g, 0.247±0.081 µg/g이었다. 한편, 동일한 시료에 대해 *E. coli*를 이용한 퀵놀론계 항균물질 간이검사법에서 양성은 두 계군 모두 휴약 후 48시간까지로 나타났고, 이 시점의 HPLC 측정값은 각각 0.038±0.016 µg/g, 0.033±0.020 µg/g이었다. 또한, Smart kit를 이용한 검사에서 양성 은 두 계군 모두 휴약 후 36시간까지였으며, 이 시점의 HPLC 측정값은 잔류허용기준치 이하로 각각 0.073±0.043 µg/g, 0.061±0.019 µg/g이었다.

신장의 HPLC 측정결과 잔류 허용 기준치인 0.3 µg/g를 초과 하는 것은 50 µg/mL, 100 µg/mL 투여 계군 각각 휴약후 12시간, 24시간까지였으며, 이 때 잔류검출농도는 각각 0.453±0.140 µg/g, 0.334±0.051 µg/g이었다. 동일한 시료에 대해 *E. coli*를 이용한 퀵놀론계 항균물질 간이검사법과 Smart kit 간이검사법에서의 양성은 계군별로 각각 휴약 후 48시간, 휴약 후 60시간까지 측정되었으며, 이 시점의 HPLC 측정 값은 잔류허용기준치 이하로 각각 0.053±0.015 µg/g, 0.072±0.058 µg/g이었다.

혈청에서는 현재 잔류허용기준이 설정되지 않은 실정으로 혈액에서의 잔류위반 시기는 비교할 수 없었다. 그러나, BmDA법으로 검사한 결과 두 계군 모두 투여기간에만 양성으로 판정되었고, 휴약 후는 모두 음성이었다. Smart kit에서는 50 µg/mL 투여 계군의 혈청이 휴약 후 36시간까지 양성 판정되었고, 이때의 HPLC 측정값은 0.025±0.009 µg/mL이었으며, 동일한 개체의 근육, 신장에 대한 HPLC 측정값은 각각

Table 3. The relationship between tissues (muscle, kidney) and blood residues for enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin in broiler chickens

| Sample | Group | Administrated period* | Withdrawal period† | Total test period‡ |
|---------|----------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Blood: | Group dosed with 50 µg/mL | 1:2.9 | 1:3.8 | 1:3.2 |
| | Group dosed with 100 µg/mL | 1:2.7 | 1:3.2 | 1:2.9 |
| Muscle: | Group dosed with 50 µg/mL | 1:3.1 | 1:5.1 | 1:3.8 |
| | Group dosed with 100 µg/mL | 1:2.9 | 1:5.1 | 1:3.6 |

*Mean of ratio (blood:tissues) per sampling time in Table 1. †Mean of ratio (blood:tissues) per sampling time in Table 2 (from w12 h to w48 h). ‡Mean of ratio (blood:tissue) per sampling time from administrated 1 h to withdrawal 48 h.

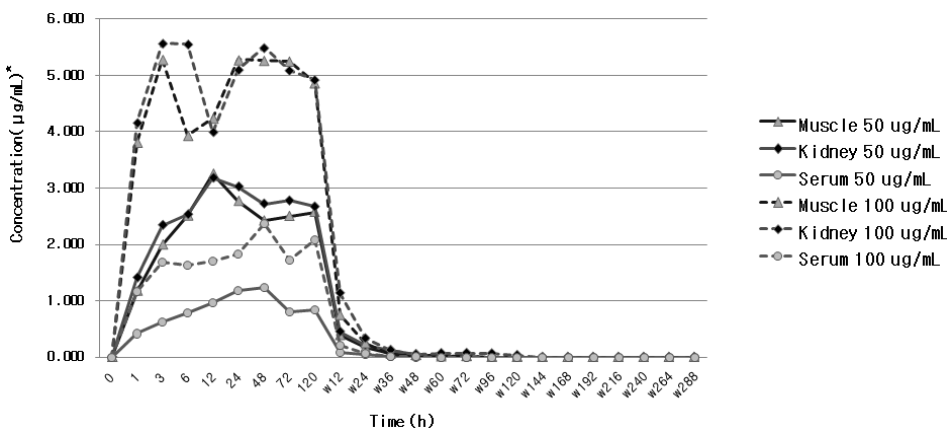


Fig. 1. Comparison of residues for enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin according to concentration of administrated ENR(50 µg/mL and 100 mg/mL) in broiler chickens. *Sum of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues.

Table 4. Comparison of detecting methods on antibiotic residues from samples in broiler chickens administrated with 50 µg/mL enrofloxacin

| Time (h) | Mean of residues in muscle | | | Mean of residues in kidney | | | Mean of residues in blood | | |
|----------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------|
| | HPLC (µg/g) | <i>E. coli</i> assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) | HPLC (µg/g) | <i>E. coli</i> assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) | HPLC (µg/mL) | BmDA assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) |
| 1 | 1.176±0.373 [†] | 21.4±0.548 | 2.426±0.086 | 1.412±0.572 | 25.6±2.945 | 2.354±0.454 | 0.420±0.060 | 11.4±1.917 | 1.606±0.029 |
| 3 | 1.995±0.590 | 22.8±1.304 | 2.554±0.054 | 2.344±0.600 | 27.5±1.173 | 2.604±0.015 | 0.628±0.069 | 16.9±1.402 | 1.632±0.038 |
| 6 | 2.510±0.537 | 23.1±0.224 | 2.520±0.075 | 2.533±0.436 | 28.4±2.191 | 2.602±0.024 | 0.787±0.082 | 17.3±1.633 | 1.652±0.031 |
| 12 | 3.250±0.696 | 23.3±1.605 | 2.590±0.029 | 3.182±0.517 | 29.6±0.548 | 2.634±0.034 | 0.962±0.068 | 19.5±1.203 | 1.662±0.025 |
| 24 | 2.770±0.546 | 25.0±0.866 | 2.528±0.033 | 3.026±0.820 | 31.3±1.987 | 2.614±0.015 | 1.179±0.160 | 19.2±1.470 | 1.620±0.025 |
| 48 | 2.420±0.635 | 24.5±0.500 | 2.566±0.062 | 2.723±0.386 | 27.4±1.025 | 2.612±0.019 | 1.233±0.160 | 15.1±1.507 | 1.642±0.043 |
| 72 | 2.201±0.548 | 24.6±1.517 | 2.586±0.064 | 2.777±0.635 | 27.8±1.483 | 2.626±0.013 | 0.802±0.105 | 17.5±2.471 | 1.640±0.021 |
| 120 | 2.574±0.875 | 23.9±0.652 | 2.508±0.056 | 2.671±0.598 | 28.7±1.304 | 2.624±0.017 | 0.845±0.087 | 18.5±1.500 | 1.628±0.038 |
| w*12 | 0.388±0.092 | 23.8±2.139 | 2.304±0.079 | 0.453±0.140 | 27.0±1.871 | 2.446±0.040 | 0.083±0.006 | - | 1.502±0.027 |
| w24 | 0.172±0.043 | 20.7±0.570 | 1.840±0.182 | 0.217±0.063 | 17.8±2.308 | 2.180±0.136 | 0.055±0.006 | - | 1.386±0.025 |
| w36 | 0.073±0.043 | 16.2±2.775 | 1.372±0.308 | 0.127±0.056 | 14.9±0.822 | 1.638±0.279 | 0.025±0.009 | - | 1.040±0.219 |
| w48 | 0.038±0.016 | 12.7±1.643 | 0.778±0.219 | 0.053±0.015 | 13.4±1.084 | 1.130±0.219 | 0.009±0.002 | - | 0.828±0.118 |
| w60 | 0.009±0.005 | - [‡] | 0.718±0.129 | 0.013±0.005 | - | 0.898±0.165 | - | - | 0.422±0.148 |

*Withdrawal, [†]Mean±SD (Sum of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues), [‡]Not detected.

Table 5. Comparison of detective methods on antibiotic residues from samples in broiler chickens administrated with 100 µg/mL enrofloxacin

| Time | Mean of residues in muscle | | | Mean of residues in kidney | | | Mean of residues in blood | | |
|------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------|
| | HPLC (µg/g) | <i>E. coli</i> assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) | HPLC (µg/g) | <i>E. coli</i> assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) | HPLC (µg/mL) | BmDA assay (mm) | Smart kit (QNL ratio) |
| 1 | 3.811±0.774 [†] | 23.6±0.224 | 2.584±0.043 | 4.155±0.601 | 34.6±2.302 | 2.650±0.034 | 1.164±0.079 | 17.7±1.356 | 1.628±0.038 |
| 3 | 5.280±0.598 | 23.8±0.671 | 2.612±0.048 | 5.562±0.858 | 35.6±2.302 | 2.656±0.029 | 1.692±0.085 | 18.4±1.596 | 1.646±0.021 |
| 6 | 3.930±1.096 | 24.1±0.548 | 2.564±0.078 | 5.547±2.256 | 34.0±2.915 | 2.642±0.019 | 1.629±0.276 | 20.2±0.846 | 1.650±0.016 |
| 12 | 4.238±0.359 | 24.1±0.822 | 2.594±0.025 | 3.992±0.595 | 30.1±3.765 | 2.632±0.020 | 1.708±0.069 | 18.8±1.001 | 1.636±0.015 |
| 24 | 5.274±0.702 | 24.6±0.548 | 2.578±0.019 | 5.095±0.589 | 31.7±4.685 | 2.642±0.016 | 1.823±0.144 | 17.5±4.301 | 1.658±0.011 |
| 48 | 5.265±1.033 | 24.8±2.139 | 2.560±0.026 | 5.484±1.341 | 35.5±3.082 | 2.622±0.015 | 2.367±0.224 | 18.5±1.844 | 1.642±0.039 |
| 72 | 5.253±0.896 | 28.8±0.447 | 2.582±0.067 | 5.085±1.052 | 31.5±0.866 | 2.648±0.023 | 1.718±0.195 | 17.3±4.367 | 1.666±0.011 |
| 120 | 4.866±1.011 | 28.0±1.541 | 2.582±0.035 | 4.916±0.998 | 30.0±2.000 | 2.668±0.016 | 2.073±0.206 | 20.3±2.049 | 1.656±0.023 |
| w*12 | 0.747±0.173 | 22.4±1.817 | 2.424±0.036 | 1.139±0.133 | 17.7±1.605 | 2.894±0.059 | 0.216±0.023 | - | 1.534±0.015 |
| w24 | 0.247±0.081 | 19.2±1.681 | 1.992±0.154 | 0.334±0.051 | 14.0±0.791 | 2.558±0.088 | 0.077±0.011 | - | 1.338±0.111 |
| w36 | 0.061±0.019 | 13.7±1.255 | 1.176±0.175 | 0.125±0.067 | 13.6±0.418 | 1.698±0.393 | 0.019±0.004 | - | 0.696±0.269 |
| w48 | 0.033±0.020 | 12.8±1.643 | 0.724±0.342 | 0.050±0.017 | 11.2±1.095 | 1.316±0.367 | 0.012±0.004 | - | 0.594±0.351 |
| w60 | 0.041±0.042 | 11.2±1.789 | 0.872±0.489 | 0.072±0.058 | 12.4±3.912 | 1.400±0.480 | - | - | 0.538±0.376 |
| w72 | 0.019±0.012 | - [‡] | 0.406±0.145 | 0.074±0.041 | - | 0.642±0.153 | - | - | 0.246±0.147 |

*Withdrawal, [†]Mean±SD (Sum of enrofloxacin and metabolic ciprofloxacin residues), [‡]Not detected.

0.073±0.043 µg/g, 0.127±0.056 µg/g이었다. 100 µg/mL 투여 계군의 혈청은 휴약후 24시간까지 양성하였고, 이 시점의 HPLC 측정값은 0.077±0.011 µg/mL이었으며, 동일한 개체의 근육, 신장에 대한 HPLC 측정값은 각각 0.247±0.081 µg/g, 0.334±0.051 µg/g이었다.

고 찰

가축의 항생제 오·남용 및 축산물내 항생제 잔류

를 방지하기 위해 정부에서는 2000년도에 잔류위반 농가관리 프로그램을 도입하였고, 2008년도에 배합 사료내 항생제 감축정책을 시행하였다(농림축산검역본부, 2013; 손, 2003). 최근에는 2013년 8월부터 항생제 등 동물용 의약품 97개 품목을 지정하여 수의사의 처방전이 없으면 구매하지 못하도록 제도적 장치를 마련하였다(농림수산식품부, 2013). 이러한 제도와 더불어 검사 분야에 있어서도 잔류에 대한 위해를 최소화하기 위해 보다 많은 도체에 대하여 검사를 할 수 있는 확대 방안이 필요하다. Reyes-Herrer 등(2011)은

현재 근육을 이용한 검사보다는 경제적 가치가 낮은 혈액을 이용하여 식육 잔류여부를 검사할 수 있는 가능성을 시사하였으며, 본 실험에서는 혈액으로 근육과 신장의 잔류량을 예측할 수 있는지를 살펴보기 위해 혈액과 조직에서의 잔류 상관관계를 조사하였다.

농도별로 ENR을 5일간 음수 투여한 후 조직과 혈액에서의 ENR과 대사성 CIP 합에 대한 잔류 농도 측정결과 조직의 잔류농도가 혈액의 잔류농도보다 훨씬 높게 나타나, Knoll 등(1999)과 Reyes-Herrera 등(2011)의 결과와 일치하였다. 또한 약물 투여 후 1시간째에 조직과 혈청에서의 잔류 농도는 각각 $1.176 \pm 0.373 \sim 4.155 \pm 0.601 \mu\text{g/g}$, $0.420 \pm 0.060 \sim 1.164 \pm 0.079 \mu\text{g/mL}$ 로 검출되어 Anadón (2001)의 보고와 같이 ENR 경구투여 시 신속하게 체내에 흡수되어 혈액 및 조직에 분포하는 것을 알 수 있었다.

약물의 최고 잔류농도는 $50 \mu\text{g/mL}$ 투여계군의 근육과 신장에서 투여 후 12시간째에 도달하는 것으로 나타났으며 그 잔류농도는 각각 $3.250 \pm 0.696 \mu\text{g/g}$, $3.182 \pm 0.517 \mu\text{g/g}$ 이었고, 혈청에서는 투여 후 48시간째에 최고 농도에 도달하였으며, 그 잔류농도는 $1.233 \pm 0.160 \mu\text{g/mL}$ 이었다. $100 \mu\text{g/mL}$ 투여 계군의 근육과 신장에서는 이보다 훨씬 빠른 투여 후 3시간만에 각각 $5.280 \pm 0.598 \mu\text{g/g}$, $5.562 \pm 0.858 \mu\text{g/g}$ 로 최고 농도에 도달하였고, 혈청에서는 $50 \mu\text{g/mL}$ 투여계군과 같이 투여 후 48시간에 $2.367 \pm 0.224 \mu\text{g/mL}$ 로 가장 높게 나타났으며, 잔류농도는 2배 높게 나타났다. 또한 실험 기간 전반적으로 용량 의존적으로 투여농도가 높을수록 잔류농도가 높았으며, 잔류소실기간도 다소 길어지는 경향을 보였다.

본 연구에서 $50 \mu\text{g/mL}$ 을 투여한 계군과 $100 \mu\text{g/mL}$ 을 투여한 계군의 투여 후 부터 휴약기간 까지 실험 전 기간 동안 혈액과 조직간의 잔류량 상관관계는 혈액에 비해 근육이 각각 3.2배, 2.9배, 신장이 각각 3.8배, 3.6배로 높았으며 투여농도에 따른 차이는 거의 없었다. 이와 같은 결과는 Reyes-Herrera 등(2011)과 Knoll 등(1999)의 연구 결과에 비해 다소 높은 비율로 나타났으며, 이는 체구가 큰 동물이나 일령이 높은 동물에 비해 작은 동물 또는 어린 일령일수록 항생제의 제거율이 빨라 반감기는 짧은 반면, 조직 분포율은 높게 나타나는 약동학 원리에 따라 약물 투여 일령 차이에 의한 것으로 사료된다(Lee와 Shin, 2008; Andes and Craig, 2002; Craig, 2007; Granneman and Guay, 1991). 한편, 본 연구에서 잔류 상관관계는 세

부적으로 투여기간과 휴약기간에 따라 차이를 나타내었다. 투여기간의 잔류농도는 혈액에 비해 근육과 신장에서 각각 2.7~2.9배, 2.9~3.1배 더 높았고, 휴약기간에는 각각 3.2~3.8배, 5.1배 더 높아 투여기간에 비해 휴약기간에 잔류량의 비율 차이가 큰 것으로 나타났다. 이 결과로 볼 때 혈액으로 조직의 잔류량을 예측할 때에는 휴약기간과 투여기간에 따라 다르게 적용해야 할 것이다. 아울러, 약물의 체내 흡수, 분포, 대사, 배설을 다루어 체내의 약물농도를 양적으로 나타내는 약동학적 측면에서 살펴보면, 본 연구에서 다루었던 fluoroquinolone의 경우 간질내와 혈청내 농도는 낮지만, 세포내 농도는 높은 반면, β -lactam계 항생제의 경우 간질내와 혈청내 농도는 비슷하나, 세포내 농도에서는 낮은 것으로 보고되어 있어 혈액으로 조직내 잔류를 예측하기 위해서는 앞으로 다른 계열 항생제에 대한 기초 연구가 더 필요하다(Lee와 Shin, 2008; Andes and Crag, 2002).

검사방법간 비교에서 근육과 신장의 잔류 스크리닝을 위한 *E. coli*를 이용한 퀴놀론계 항균물질 간이 검사법과 Smart kit를 이용한 간이검사법은 투여 농도별로 거의 비슷한 잔류농도에서 양성으로 판정되었다. 또한, 두 간이검사법을 이용한 검사결과, 근육과 신장에서 최종 양성으로 판정된 시간이 각각 휴약 후 36~48시간과 48~60시간이었으며, 이 시점의 잔류농도는 모두 잔류허용기준치보다 낮은 농도였다. 따라서 이 두 가지 간이검사법이 닭의 근육과 신장에서 퀴놀론계물질 잔류 여부를 스크리닝하는데 유용한 검사법으로 나타났다. 이러한 결과는 Schneider와 Donoghue (2004)가 닭 조직에서 fluoroquinolone의 잔류 여부 검출을 위해 간이검사와 정밀정량검사를 비교한 결과 미생물학적방법을 이용한 간이검사법이 잔류위반 여부를 스크리닝하는데 유용하다는 결과와 일치하였다. 또한, 혈액으로 Smart kit 간이검사를 실시하여 최종 양성으로 판정된 시간이 $50 \mu\text{g/mL}$ 을 투여한 계군에서 휴약 후 36시간이었으며, 이 시점의 근육과 신장 잔류농도는 모두 잔류허용기준치보다 낮았다. $100 \mu\text{g/mL}$ 을 투여한 계군에서는 휴약 후 24시간에 혈청에 대한 Smart kit 간이검사에서 양성이었으며, 이 시점은 근육과 신장의 잔류위반 시점과 동일하였다. 이러한 결과로 혈액을 이용한 Smart kit 간이검사가 근육과 신장의 잔류위반을 스크리닝할 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

결 론

육계에서 enrofloxacin을 농도별로(50 µg/mL 및 100 µg/mL) 5일 동안 음수투여하여 투여기간(5일)과 휴약기간(12일) 동안 근육, 신장 및 혈액에서 enrofloxacin과 대사성 ciprofloxacin 농도를 측정하여 조직과 혈액의 잔류 상관관계를 조사하였다. 또한 잔류 검사방법간의 비교를 위해 HPLC법과 *E. coli*를 이용한 퀵논계 항균물질 간이검사법, Smart kit를 이용한 간이검사법을 동시에 실시하였다. 두 계군에서 잔류상관관계는 혈액에서의 잔류량에 비해 근육과 신장에서의 잔류량은 각각 평균 2.9~3.2배, 3.6~3.8배 더 높은 것으로 나타났다. 따라서 혈액에서의 잔류량으로 근육과 신장의 잔류량을 예측할 수 있음을 알 수 있었다.

검사방법간 비교에서 근육과 신장의 잔류 스크리닝을 위한 *E. coli*를 이용한 퀵논계 항균물질 간이검사법과 Smart kit를 이용한 간이검사법은 비슷한 잔류농도에서 양성으로 판정되었고, 이때의 잔류농도가 모두 잔류허용기준치보다 같거나 낮은 농도였다. 따라서 *E. coli*를 이용한 퀵논계 항균물질 간이검사법과 Smart kit를 이용한 간이검사법 모두 닭 조직에서 퀵논계 항균물질 잔류 여부를 스크리닝하는데 유용한 검사법으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 농림수산부. 1989. 수육중잔류물질시험방법 및 허용기준. 고시 89-33호.
- 농림수산식품부. 2013. 동물용 의약품등 취급규칙. 농림수산식품부령 제332호.
- 농림축산검역본부. 2013. 2012년도 축산 항생제내성균 감시체계 구축 보고서. pp. 5-30.
- 서계원. 2000. 계란중 Fluoroquinolone계 합성항균제의 잔류에 관한 연구. 전남대학교 박사학위논문. pp. 65-87.
- 손성완. 2003. 잔류예방과 수의사의 역할. 대한수의사회지 39: 147-154.
- 식품의약품안전처. 2013a. 식육중 잔류물질검사용령. 고시 제 2013-135호.
- 식품의약품안전처. 2013b. 식품의 기준 및 규격. 고시 2013-204호.
- 식품의약품안전평가원. 2013. 축수산물 유해물질 분석법 편람. pp. 17-50.
- Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Iturbe J, Martínez MA, Díaz MJ, Frejo MT, Martínez M. 2001. Pharmacokinetics and residues of ciprofloxacin and its metabolites in broiler chickens. Res Vet Sci 71: 101-109.
- Anderson AD, Nelson JM, Rossiter S, Angulo FJ. 2003. Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. Microb Drug Resist 9: 373-379.
- Andes D, Craig WA. 2002. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. Int J Antimicrob Agents 19: 261-268.
- Choi YJ, Yun IR, Nam SY, Park YH, Kim BH, Son SG. 2007. Study on analytical method of fluoroquinolone residues in eggs by LC/MS/MS. Korea J Vet Serv 30: 13-21.
- Collignon P. 2005. Fluoroquinolone use in food animals. Emerg Infect Dis 11: 1789-1790.
- Cox LA Jr. 2006. Enrofloxacin in poultry and human health. Emerg Infect Dis 12: 872-873.
- Craig WA. 2007. Pharmacodynamics of antimicrobials: general concepts and applications. pp. 1-19. In: Nightingale CH, Ambrose PG, Drusano GL, Murakawa T(ed.). Antimicrobial pharmacodynamic in theory and clinical practice. 2nd ed. Informa healthcare, New York.
- FDA. 2005. Commissioner of Food and Drugs, Docket No. 2000N-1571, Enrofloxacin for Poultry; Final Decision on Withdrawal of New Animal Drug Application Following Formal Evidentiary Public Hearing; Availability. Federal Register Volume 70 Number 146. <http://edocket.access.gpo.gov/2005/05-15224.htm>.
- Gigosos PG, Revesado PR, Cadahia O, Fenta CA, Vazquez BI, Franco CM, Cepeda A. 2000. Determination of quinolones in animal tissues and eggs by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. J Chromatogr A 871: 31-36.
- Gupta A, Nelson JM, Barrett TJ, Tauxe RV, Rossiter SP, Friedman CR, Joyce KW, Smith KE, Jones TF, Hawkins MA, Shiferaw B, Beebe JL, Vugia DJ, Rabatsky-Ehr T, Benson JA, Root TP, Angulo FJ; NARMS Working Group. 2004. Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. Emerg Infect Dis 10: 1102-1109.
- Granneman GR, Guay DR. 1991. The influence of age on the pharmacokinetics of temafloxacin. Am J Med 91: 71S-75.
- Iovine NM, Blaser MJ. 2004. Antibiotics in animal feed and spread of resistant *Campylobacter* from poultry to humans. Emerg Infect Dis 10: 1158-1159.
- Kim JM, Jean NS, Kim JW, Jean YH, Lee HS, Kweon CH, Woo SR, Lee HC, Park JM, Kim JH, Rhee JC. 1997. Antimicrobial drug susceptibility and treatment efficacy in mice against *Escherichia coli* and *Salmonella* spp isolated from feces of diarrheal animals. Korea J Vet Res 37: 389-403.
- Knoll U, Glünder G, Kietzmann M. 1999. Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. J Vet Pharmacol Ther 22: 239-246.
- Koh BRD, Park SD, Jang MS, Na HM, Kim YH. 2005. Surveys on the residual level of fluoroquinolones in eggs. Korea J Vet Serv 28: 235-243.
- Lee DG, Shin HH. 2008. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics: General concepts and Recent Advances.

- Infection and Chemotherapy 40: 140-147.
- Lee YJ, Cho JK, Kim KS, Tak RB, Kim AR, Kim JW, Im SK, Kim BH. 2005. Fluoroquinolone resistance and *gyr A* and *par C* mutations of *Escherichia coli* isolated from chicken. J Microbiol 43: 391-397.
- Lee YJ, Kim YR, Jung SC, Song SW, Kim JH. 2005. Antibiotic resistance pattern of *E. coli* and *Salmonella* spp. isolated from chicken feces. Korea J Vet Res 45: 75-83.
- Lolo M, Pedreira S, Miranda JM, Vázquez BI, Franco CM, Cepeda A, Fente C. 2006. Effect of cooking in enrofloxacin residues in chicken tissue. Food Addit Contam 23: 988-993.
- Park EJ, Lim JH, Lee SM. 2004. Determination and Survey of Fluoroquinolones Residue in Chicken Muscle by HPLC with Fluorescence Detector. J Fd Hyg Safety 19: 12-18.
- Posyniak A, Zmudzki J, Niedzielska J. 2002. Liquid chromatography analysis of enrofloxacin and ciprofloxacin in chicken blood spotted on filter-paper disks. J Chromatogr B 780: 309-314.
- Reyes-Herrera I, Schneider MJ, Blore PJ, Donoghue DJ. 2011. The relationship between blood and muscle samples to monitor for residues of the antibiotic enrofloxacin in chickens. Poultry Science 90: 481-485.
- Schneider MJ, Donoghue DJ. 2004. Comparison of a bioassay and a liquid chromatography-fluorescence-mass spectrometry (n) method for the detection of incurred enrofloxacin residues in chicken tissues. Poult Sci 83: 830-834.
- Seo KW, Lee JI, Lee CY, Kim ES, Lee JC. 2002. Matrix Solid-Phase Dispersion (MSPD) for the Isolation and Liquid Chromatographic Determination of Fluoroquinolones in Eggs. Korean J Publ Hlth 26: 269-281.
- Sim ER, Kim MH, Yoo EA, Lee YJ, Chun SY, Moon SP, Hahn YS. 2005. A study on trend of residual in blood and eggs of laying hens after oral administration of quinolones. Korean J Vet Serv 28: 245-251.
- Sung MS, Kim JH, Cho JK, Seol SY, Kim KS. 2008. Antimicrobial resistance and transfer of R plasmid of pathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry in Korea. Korean J Vet Res 48: 275-285.
- Wright DH, Herman VK, Konstantinides FN, Rotschafer JC. 1998. Determination of quinolone antibiotics in growth media by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 709: 97-104.